



TITLE:

自由:41 正常およびエンドトキシン
投与サルにおける外因系血液凝固
プロテアーゼインヒビター(TFPI)の
発現調節機構の検討(Ⅲ 共同利用研
究 2.研究成果)

AUTHOR(S):

加藤, 久雄; 円城寺, 慶一

CITATION:

加藤, 久雄 ...[et al]. 自由:41 正常およびエンドトキシン投与サルにおける外因系血液凝固
プロテアーゼインヒビター(TFPI)の発現調節機構の検討(Ⅲ 共同利用研究 2.研究成果). 霊
長類研究所年報 1995, 25: 105-106

ISSUE DATE:

1995-11-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/164648>

RIGHT:

研で飼育されているギランバレー症候群様の症状をしめしたサルについて、HLA-B35 の抗血清あるいはモノクローナル抗体を用いて、反応性を検討したが、結果は陽性であった。この事実は、サルのギランバレー症候群の発症機構がヒトのそれと異なっている可能性をしめしている。今後ヒトとサルのMHC 系を遺伝的、血清学的に比較、検討することにより、MHC 系の進化の過程を明らかにしていきたいと考えている。

自由：40

植物におけるペプシン阻害物質の検索と同定

手塚修文（名古屋大学・情報分化文化学部・自然情報学科）

サルが植物の葉・蕾・木の実（種子）などを食べた後に、その植物に含まれる様々な成分が消化機能に与える影響、特にペプシンの活性に及ぼす効果について調べることを目的とした。

種々の植物の葉・蕾・種子などのサンプルを破砕して、そのホモジネート（中の成分）によるペプシン活性、つまり蛋白質分解能（proteolytic activity）に及ぼすホモジネート成分の影響について調査した。ホモジネートを遠心分離して得られた上清画分を用いるよりもホモジネートそのものを用いた方が咀嚼した状態に近いので、ホモジネートによる蛋白質分解能に対する効果になるべく胃の活動中の状態に近い条件で測定可能な実験系を確立してペプシン活性を測定した。葉では、サンゴジュ：61%，ヨモギ：48%，サクラ：39%，シイ：11%，クヌギ：27%，クス：26%，ツバキ：11%，ススキ：4%，ギシギシ：0%の阻害効果が見られた。また、ツバキ蕾では58%，ドングリ種子では25%，シイ種子では17%の阻害が見られた。

この事象はサルの食性・嗜好と深い関係があると思われる。さらに、この研究は植物中の物質がペプシン活性を阻害するという最初の発見であり、蛋白質分解能と食性に関する研究の重要な端緒を開いたことになる。

自由：41

正常およびエンドトキシン投与サルにおける外因系血液凝固プロテアーゼインヒビター（TFPI）の発現調節機構の検討

加藤久雄、円城寺慶一

（国立循環器病センター研究所）

TFPI は、組織因子／第VIIa因子複合体並びに第Xa因子を阻害する外因系血液凝固系の有力な制御因子である。細菌性炎症反応においては、細菌性エンドトキシンによって組織因子の発現が誘導され、血液凝固反応が開始される。そこで、炎症反応におけるTFPIの役割を明らかにする目的で、サルTFPIの発現調節機構について検討を行った。まず、各臓器での発現をノーザン・ブロッティングにより検討した。ヒトやラットでは肺、腎臓、心臓などが主要な産生臓器で、肝臓での発現は認められず、肝癌由来細胞でのみ発現が認められているが、サルでは肝臓においても肺に次ぐ強い発現が認められた。ヒトやラットにおける主要な産生細胞は血管内皮細胞であることから、この発現は肝類洞内皮細胞に由来することも考えられるが、細胞分画により得られた肝実質細胞でもTFPI mRNAの発現が認められたことより、サルにおいてはヒトの場合と異なり肝臓も主要な産生部位であることが明かとなった。この発現は抗TFPI抗体を用いた組織染色によっても肝実質細胞が染色されることから、蛋白質にまで翻訳されて産生されていることが明かとなった。エンドトキシン投与によってはその発現量は変化が認められなかった。この発現パターンは、ニホンザル、カンクイザル、アカゲザル、ワタボウシタマリンなど調べたサル全てにおいて共通であった。しかしながら、各臓器で発現しているmRNAのサイズはヒトと同じく2種類の分子種が認められた。次にヒトとサルの発現様式の違いを明らかにする目的で、発現調節領域の単離、構造解析を行った。ニホンサル白血球DNAライブラリーより5' 非翻訳領域を含むエクソン1をプローブとしてスクリーニングを行い3つのクローンを得た。これらによって転写開始点前後約30 kb、全長約60 kbの範囲をカバーしていた。転写開始点は、ヒトよりも約20 bpほど下流であったが、この領域の相同性は95%以上であった。現在、ヒトとサルTFPI遺伝子の5' flanking領域にレポーター遺伝

子をつないだプラスミドと培養細胞を用いて、その発現調節機構を検討している。

自由：42

ニホンザルの採食パターンとヤマグワの反応

綿貫 豊（北海道大学農学部）

中山裕理（平岸高校）

下北半島北西部のARAグループを1994年12月より1995年3月まで追跡し、遊動パターンと行動時間配分を明らかにした。今シーズンは秋の結実が良くまた積雪が少なく、餌の中の冬芽樹皮の比率が小さかった。サルはヤマグワの冬芽をおもに採食し、樹皮食いまでは行わなかったため、今シーズンにおいてはヤマグワの再生産にあたえる影響は小さいと予想される。同時に遊動域内での同地域でのヤマグワの分布および遊動パターンと比較研究をおこなう予定である。

この地域内において、サルの採食を受けていないヤマグワの幼木から冬芽を除去する予備的実験をおこなった。一部の冬芽を除去された1年生枝にのこった冬芽からは他にくらべて長い1年生枝が伸びる傾向があり、これは先にえられた、サルに利用される場所のヤマグワの1年生枝が長いという観察を裏付けた。サルの採食を受けたヤマグワと受けないヤマグワの翌年の再生産を比較するため、ヤマグワの計測を実施中である。

自由：43

積雪地方に生息するニホンザルの雪中尿を材料とした尿中エストロジェン測定による妊娠判断

森光由樹・加藤里麻（日獣大・野生動物）

野生ニホンザルの個体群動態を野外で直接モニタリングするのは、困難なことが多い。本研究では、個体群動態を推定していく手段の一つとして、妊娠状況を間接的に把握する方法を確立することを試みた。積雪地帯でありかつ個体識別が明確な地獄谷野猿公苑（長野県）の餌付けニホンザル群において、妊娠によって尿中エストロジェンが上昇し始める妊娠中期以降の2月下旬（1993年度）に予備実験として、妊娠の可能性の高い個体と可能性の低い個体、計17個体の雪中尿を採取した。その後、蛍光法（ブラウン変法）による尿中のエストロジェンの測定を行った。また、雪による尿

の希釈倍率を求めるために尿中のクレアチニンを測定し、その値からエストロジェン値の補正を行った。その後、出産期に実際に確認された、各個体の出産状況と尿中エストロジェンレベルと妊娠との関係について検討した。その結果、出産確認個体のエストロジェン下限値（ $n=8$ ）と出産未確認個体のエストロジェン上限値（ $n=7$ ）との間に明確な境界線を引くことは出来なかったものの、両者の平均値には、有意差が認められた。（ $P<0.05$ ）

1994年度においても、地獄谷野猿公苑にて同時期に30個体の尿を採取した。現在、同方法にてエストロジェン値を測定中である。今後は両年度の結果と合わせて、妊娠判断の正確さを検証するとともに、ランダムサンプリングによる群全体の妊娠率の推定の可能性についても検討していきたい。

自由：45

ニホンザルにおける連続的（20分間）に測定された体温と環境（温度・光）、行動および生殖現象との関連の分析

和 秀雄（日獣畜大・野生動物）

本研究の目的は、20分間隔で測定した体温の変化と、環境、動物の行動および生殖現象（排卵、妊娠、出産など）との関連を明らかにし得るかどうかを検討することにあった。

平成5年度においては、基礎的な資料を収集することを目的に、温度連続記録計（アレック電子製、MDS-T 改良型）を、1頭のニホンザル・メス（成獣）の背部（左右肩甲骨の間）皮下に埋め込むとともに、同型の記録計をサルの放飼施設横の日陰に設置し、体温と外気温の同時記録を試みた。また、短期間ではあるが、行動の観察を行って、行動の変化と体温の変化の関連を検討することを試みた。

記録計を埋め込んだサルは、その後、妊娠および出産がみられ、体温と生殖現象の関連を検討するための理想的なケースになると期待された。

ところが、記録計の埋め込み後約1年を経過した1994年6月、記録計を回収し、日本獣医畜産大学に持ち帰って、コンピューターに接続して記録されたデータの取り出しを試みた点で、重大なアクシデントに気づかされた。体内に埋めこんだ記録計からも、放飼施設横に設置した記録計からも、